

Відгук офіційного опонента

на кваліфікаційну наукову працю на правах рукопису

Струс Васи́лини Орестівни

“Морфометричне, фенетичне та генетичне різноманіття зелених жаб (*Pelophylax*) з різних популяційних систем”,

що подана на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 03.00.08 — зоологія

Актуальність теми дисертаційної роботи. Робота Васи́лини Орестівни Струс присвячена детальному дослідженню дуже простого феномену. Зелені жаби — ті самі, що сидять по берегах майже будь-якої прісної водойми в нашій країні, — є різними. За якими ознаками вони є різними? Наслідком чого є їхнє різноманіття? Які відмінності між групами зелених жаб сильніше впливають на прояв їхнього різноманіття? Подібну роботу можна було б виконати на будь-якій поширеній групі тварин нашої фауни. Для будь-якої групи тварин детальне вивчення паттерну біорізноманіття може дати чимало цінної інформації, що допоможе зрозуміти зв'язки представників цієї групи з середовищем, характер мікроеволюції, стійкість популяцій тощо. Але обговорювана робота присвячена дуже особливій групі тварин — зеленим жабам.

На різноманіття зелених жаб впливає не лише мікроеволюція, локальні умови оселищ та випадок, а й незвичайний спосіб міжвидової гібридизації та відтворення гібридів, що є характерним для цієї групи. До складу невеликої групи жаб, що зістрибнули у воду при нашому наближенні до водойми, можуть входити особини, що є результатом принципово різного відтворення. У такій групі можуть бути представники батьківських видів — особини, що утворюються внаслідок звичайного статевого розмноження з рекомбінацією. Кожна з таких особин є генетично унікальною. Поруч з ними можуть знаходитися міжвидові гібриди, один або два геноми яких передаються між поколіннями як єдине ціле, клонально, без рекомбінації. Два розташованих поруч гібриди можуть мати ідентичні копії одного геному та різні — іншого. У таких особин унікальною є лише половина генотипу. Внаслідок схрещування двох гібридів, кожен з яких продукує ідентичні гамети з певним геномом, можуть утворюватися клони — генетично унікальні особини. Втім, ці клони, вірогідно, не будуть цілком тотожними, адже на їх розвиток впливає не лише генотип. Серед гібридів деякі є такими, що утворилися від схрещування батьківських видів, а деякі є результатом схрещування гібридів.

Ми, насправді, погано розуміємо, як геміклональна гібридизація впливає на різноманіття зелених жаб. Навіть просто поширення і склад популяційних систем цієї непростой для вивчення групи у різних регіонах України досліджено дуже нерівномірно. Відомо, що для різних регіонів характерним є різний склад популяційних

систем зелених жаб, в них можуть утворюватися різні форми гібридів. Ці форми відрізняються за кількістю і складом геномів, за тим, які геноми вони передають потомству, від яких схрещувань утворюються.

Василина Орестівна працює у регіоні, де зелені жаби були досліджені недостатньо. Вона провела детальний аналіз генетичного, морфометричного та фенетичного різноманіття жаб батьківських видів та гібридів в цьому регіоні, а також на відносно дослідженій ділянці іншого регіону, на території Харківської області. На погляд опонента, сама задача такого дослідження є дуже цікавою; яка картина буде отримана в результаті такого дослідження, передбачити заздалегідь неможливо. Його результати можуть бути дуже корисними для розуміння причин біорізноманіття, значення геміклональної гібридизації, збереження унікальних природних об'єктів, біоіндикації тощо.

Наукова новизна і практична цінність дисертаційної роботи. Робота присвячена вивченню практично важливої та теоретично цікавої групи тварин в недостатньо вивченому регіоні. В ній застосовано широкий комплекс ознак, що раніше не використовувався. Отримані нові дані, що стосуються закономірностей біорізноманіття досліджуваної групи, характерних станів ознак для батьківських видів та гібридів, індикаторних ознак для оцінки антропогенної трансформації оселищ.

Теоретичні результати роботи важливі для вивчення міжвидової гібридизації і впливу гібридогенезу на біорізноманіття. Практичні результати роботи важливі для моніторингу унікальних природних систем та їх збереження. Одним з наслідків роботи стало поповнення колекційного матеріалу Зоологічного музею Львівського національного університету імені Івана Франка. Отримані у ході виконання роботи дані та розроблені в ній методики використовуються у викладанні загальних курсів та під час проведення практик Львівського національного університету імені Івана Франка.

Обґрунтованість і достовірність наукових висновків. Метою роботи є визначення важливіших факторів, які впливають на різноманіття представників гібридогенного комплексу зелених жаб, оцінене за генетичними, морфометричними та фенетичними ознаками. Оскільки різноманіття об'єкту вивчення досліджується за трьома категоріями ознак, три з п'яти завдань роботи пов'язані з детальним аналізом причин генетичного, морфометричного та фенетичного різноманіття зелених жаб. На підставі значного матеріалу, який аналізується коректними методами, автор встановлює нові зв'язки між причинами та проявами різноманіття, а також уточнює та підтверджує результати, що вже були отримані на іншому матеріалі. Четверте завдання дослідження пов'язане з детальним розглядом наслідків антропогенного впливу на оселища зелених жаб; для їх коректної оцінки доводиться використовувати лише одну форму жаб, самців озерної жаби, та залучити нові категорії даних (оцінку стійкості гаметогенезу та розвитку сім'яників). Останнє, п'яте завдання пов'язано з інтеграцією даних щодо впливу на різноманіття жаб різних категорій відмінностей між ними. В цілому ці завдання формують ло-

гічний і послідовний комплекс. У роботі використано широкий спектр методів дослідження, які дозволяють отримати достовірні дані та значущі результати їх порівняння. Зроблені в роботі висновки роботи ґрунтуються на адекватній та достатній фактичній основі та отримані із коректним застосуванням сучасних методів аналізу даних.

Повнота викладення здобувачем основних результатів. Апробація результатів дисертаційної роботи відповідає сучасним вимогам. Починаючи з 2012 р. Васирина Орестівна взяла участь у низці конференцій. Вимоги до публікації результатів роботи повноцінно виконані; одна робота оприлюднена у найавторитетнішому зоологічному журналі нашої країни *Vestnik Zoologii*, що входить у визнані міжнародні наукометричні бази, інші результати оприлюднені в 6 інших статтях, 5 з яких є фаховими згідно з вимогами МОН.

Оцінка мови, стилю та оформлення дисертації та автореферату. Дисертаційна робота викладена на 376 сторінках, з яких 166 сторінок є власне текстом дисертації. За структурою робота складається зі вступу, 8 розділів, висновків, списку джерел та 16 додатків. Кожний розділ завершується окремими висновками. Дисертація містить 14 таблиць та 70 рисунків. В авторефераті послідовно і коректно висвітлено зміст усіх розділів дисертації; його зміст стисло відповідає змісту дисертації. Дисертацію та автореферат написано професійною мовою, коректно та ёмно. Список використаних джерел демонструє коректну роботу з великим обсягом літератури; він складається з 368 посилань, 133 з яких — латиницею.

Аналіз змісту дисертації. Перший розділ дисертації є оглядом літератури, що присвячений дослідженням зелених жаб (*Pelophylax*) в Україні та Європі. Наведено детальну інформацію щодо відкриття гібридогенезу у зелених жаб, стисло характеристики історії їх вивчення, опис характерних особливостей представників батьківських видів та гібридів. Зауваження, що виникають під час знайомства з цим розділом, є дрібними. Наприклад, жаби, які Йозеф Лауренті відділив від ропух, не відрізняються одні від одних за наявністю дорзомедіальної смуги: в обох групах є як представники, що мають смугу, так і позбавлені її. Краще було б сказати не “жаба озерна відрізняється великим апетитом ..., а також канібалізмом”, а “...здатністю до канібалізму”.

Важко погодитися з тим, що “Найбільш південно-східна знахідка жаби істівної зафіксована у Ростовській обл. у Російській Федерації (РФ)” з посиланням на роботу “О южной границе распространения гибридной *Rana esculenta* (Ranidae, Anura, Amphibia) на территории Украины и Молдовы”.

Здатність відкладати ікринки різного розміру вказана Лешеком Бергером і для озерних жаб (дисертант вказує, що це можливо лише для гібридних особин). На погляд опонента, нема підстав пов’язувати псевдогермафродитизм, що зустрічається у гібридних жаб, з триплоїдією. Триплоїди досить часто демонструють нормальний

розвиток статеві системи, а більшість гермафродитів та особин з порушенням статевого розвитку є диплоїдами.

Детально розглянуто відтворення гібридів та різноманіття популяційних систем. На жаль, на погляд опонента, помилковим є наступне твердження, що стосується триплоїдних гібридів: *“Особин із меншим геномом залучають до LLR-типу, а з відносно більшим – до RRL-типу, адже жаба озерна має більшу масу геному, ніж ставкова. Проте М. Огельська заперечує прояв ефекту дози у морфометрії у триплоїдів зелених жаб, тому такі припущення є, як мінімум, двозначними і до кінця не вивченими”*. Ефект дози в морфометрії пов’язаний з тим, що триплоїди з двома геномами озерної жаби більш подібні до озерних жаб, а з двома геномами ставкової — на ставкових. Відмінності розміру геномів батьківських видів (що є наслідком розмноження ретровірусу в геномі озерної жаби), які реєструються за допомогою методу проточної цитометрії — зовсім інше питання. Надійність визначення двох типів триплоїдів за допомогою проточної цитометрії підтверджено альтернативними методами багатьох разів.

Також в цьому розділі дисертації розглянуті характерні морфи зелених жаб та дано огляд використання сучасних молекулярно-генетичних методів для вивчення європейських зелених жаб.

Другий розділ містить характеристику території досліджень. Наведено зоогеографічне районування, описи водойм та їх рослинності, характеристика антропогенного впливу. На погляд опонента, не варто обговорювати *“зоогеографічне та фізико-географічне районування держави”*, можна казати про районування країни (краще — території країни).

Третій розділ присвячено методам та матеріалу досліджень. Крім іншого, надано детальну характеристику використаних морфометричних промірів та фенетичних ознак. На жаль, примітку до таблиці 3.1 дуже важко зрозуміти (зробити це до кінця так і не вдалося). Приємне враження на опонента призвели кількість та різноманіття застосованих дисертанткою статистичних методів.

Усього робота базується на детальному вивченні 587 особин зелених жаб.

Наступні три розділи присвячені трьом різним вимірам різноманіття зелених жаб.

Четвертий розділ містить результати дослідження генетичного різноманіття за мікросателітними послідовностями та відповідає першому завданню дисертації (описати генетичну мінливість жаб, проаналізувати видовий склад та генетичну структуру). Аналізувалися 10 локусів, деякі з яких представлені значною кількістю алелей. Цьому розділу відповідає перший висновок дисертації. Важливим результатом, що був отриманий дисертанткою, є реєстрація меншого генетичного різноманіття гібридних особин у порівнянні з представниками батьківських видів. Досліджені у дисертації вибірки відрізняються за характером генетичного різноманіття, крім іншого, внаслідок різної інтенсивності схрещування батьківських видів.

П'ятий розділ розглядає морфометричне різноманіття зелених жаб та відповідає другому завданню: обрати найінформативніші проміри; перевірити морфометричне визначення таксономічної приналежності досліджених особин. Цьому розділу відповідає другий висновок дисертації. Виявлені найінформативніші морфометричні індекси для визначення таксономічної належності особин; описані відмінності між представниками різних статей. Втім, молекулярно-генетична перевірка надійності визначення за морфометричними індексами показала досить високий рівень помилок, які були б зроблені, якщо б дослідники орієнтувалися лише на морфометричні характеристики досліджуваних особин. Існує певна плутанина, в якому розділі дисертації має розглядатися статус особин, неправильно визначених за морфологією та перевизначених за генетичними даними. Цей фрагмент відповідає другому завданню роботи і, таким чином, п'ятому розділу. Втім, його викладення міститься в четвертому розділі роботи.

Слід зазначити, що в цьому розділі наведено детальне обговорення мінливості низки індексів у різних форм жаб з різних оселищ; для читача сприйняття цих даних є непростою задачею.

Шостий розділ присвячено фенетичному різноманіттю представників досліджуваної групи. Цей розділ відповідає третьому завданню: встановити вплив таксономічної належності, статі та зрілості особин на фенетичне різноманіття, описати фенотипи особин. Розділу відповідають третій та четвертий висновки дисертації. Встановлені ознаки, що пов'язані з таксономічною належністю, зрілістю та статтю досліджуваних особин. Надано характеристики стану фенетичних ознак, що принадні представникам батьківських видів та міжвидових гібридів.

Цікаво, що статистично значущий зв'язок з таксономічною приналежністю, зрілістю та статтю жаб демонструє достатньо велика кількість фенетичних ознак. Виконаний дисертанткою аналіз є переконливим; його перевагою є коректне використання поправки на множинне порівняння (на жаль, у великій кількості подібних робіт необхідність застосування цієї поправки ігнорується).

Сьомий розділ містить результати дослідження впливу хімічного складу води на прояв фенетичних ознак і стійкість сперматогенезу самців озерної жаби. Він відповідає четвертому завданню, згідно з яким треба встановити вплив забруднення на індикаторні ознаки жаб та на стійкість їх розвитку. Розділу відповідає п'ятий висновок дисертації. Знайдено певні ознаки, які пов'язані з рівнем антропогенної трансформації водойм. Цікавим є те, що кількість цитогенетичних аномалій у сім'яниках не продемонструвала зв'язку з рівнем забруднення (хоча цього можна було б чекати). Незважаючи на те, що спосіб оцінки якості середовища за цитогенетичними аномаліями не знайдені, на погляд опонента, подібні дослідження слід було б продовжити.

Останній, **восьмий розділ** присвячено визначенню компонентів різноманіття зелених жаб. Порівнюючи групи жаб, які належать до груп, що відрізняються одна

від одної за різними ознаками (зоогеографічним регіоном, типом популяційної системи, категорією трансформованості оселищ тощо) можна порівняти вплив цих відмінностей на різноманіття жаб. Цей розділ відповідає п'ятому завданню роботи та останньому, шостому її висновку. Застосовано цікавий спосіб аналізу результатів, який продемонстрував, що рівень різноманіття — інтегруюча характеристика, на які впливає ціла низка факторів.

На погляд опонента, під час захисту роботи бажано детально обговорити зміст, що вкладається в кілька ключових понять, що широко застосовуються у роботі та в авторефераті. Перш за все, це відношення між поняттями “популяція” та “геміклональна популяційна система”. Наприклад, у першому завданні роботи мова йде про *“генетичну мінливість у популяціях зелених жаб”*. У разі, якщо розглядаються складні системи, що складаються з представників батьківських видів та гібридів, порівняння особин може відбуватися як всередині певної форми жаб, так і між різними формами. На жаль, термінологія для опису таких випадків лишається недостатньо розробленою.

Друге питання стосується співвідношення понять “різноманіття” та “мінливість”. Вірогідно, у деяких випадках вони є синонімами, у деяких — ні. Щоб запобігти плутанині, бажано чітко окреслити зміст, що вкладається в ці поняття. На погляд опонента, формулювання на приклад *“передавання клонального геному в межах геміклональної популяційної системи не сприяє морфометричному та фенетичному різноманіттю гібридних особин”* (з “Наукової новизни роботи”) є недостатньо чітким.

Третє “термінологічне” питання стосується понять “фенетичний” та “фенотипний”. Це синоніми або ці поняття мають певну специфіку?

Ще одне питання стосується того, чи зареєстровані дисертанткою особини, які можуть бути генетично ідентичними, представниками одного клону. Під час дослідження Іськова ставу та Корякова яру, двох добре відомих опоненту геміклональних популяційних систем в Харківській області, дисертант провела фенетичний опис певної кількості робіт. Мова йде про досить нечисленні ГПС, де може передаватися невелика кількість клональних геномів. На погляд опонента, серед досліджених особин могли опинитися генетично ідентичні. Траплявся подібний феномен, або ж ні? В обох випадках можна проаналізувати, як це характеризує досліджувані популяційні системи.

Слід враховувати, що спірні та недостатньо прояснені питання, пов'язані зі сприйняттям дисертаційного дослідження, не нівелюють його цінності. В цілому робота справляє дуже добре враження. Знайомство з цією роботою було дуже цікавим для опонента та викликало кілька ідей, які треба буде врахувати у подальшій роботі.

Висновок. На підставі проведеного аналізу можна зробити висновок, що за своєю актуальністю, обсягом виконаних досліджень, науковою новизною, достовірністю

одержаних результатів, обґрунтованістю висновків, оформленням роботи, дисертація Струс Василини Орестівни "Морфометричне, фенетичне та генетичне різноманіття зелених жаб (*Pelophylax*) з різних популяційних систем", відповідає кваліфікаційним вимогам щодо кандидатських дисертацій, викладеним у «Порядку присудження наукових ступенів», що затверджений Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, зі змінами, що затверджені Постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19 серпня 2015 р. та № 1159 від 30 грудня 2015 р., а її автор, Струс В. О., заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.08 – зоологія.

21 серпня 2019

Офіційний опонент,
професор кафедри зоології та екології тварин
Харківського національного університету
імені В. Н. Каразіна, заступник декана
біологічного факультету з наукової та
інноваційної роботи, доктор біологічних наук
за спеціальністю 03.00.16 - екологія, доцент

Д. А. Шабанов



ПИС ЗАСВІДЧУЮ
начальник відділу
кадрів